

## МИКРОБИОМ И КОЖА

Илко Бакърджиев<sup>1,2</sup>, Женя Стоянова<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Медицински колеж – Варна

<sup>2</sup>Медицински университет – Варна

<sup>3</sup>Отделение по кожни болести и венерология, УМБАЛ „Света Марина“, Варна

## MICROBIOME AND SKIN

I. Bakardzhiev<sup>1,2</sup>, J. Stoyanova<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Medical College – Varna

<sup>2</sup>Medical University of Varna

<sup>3</sup>Department of Skin Diseases and Venereology, “St. Marina” University Hospital, Varna

### РЕЗЮМЕ

Човеешката кожа е сложна и динамична екосистема, обитавана от бактерии, акари, гъбички и вируси. Тази съвкупност от микроорганизми, живеещи по кожата и лигавиците на оронарния, горните дихателни пътища, конюнктивата, дебелото черво и долните отдели на уро-гениталния тракт, се нарича нормална флора (физиологична, естествена, автохтонна, микробиом, микробиота) и има основно значение за физиологията на кожата и имунитета.

Разработването на молекулярни методи за идентифициране на микроорганизми доведе до по-богата представа за пребиваващите кожни бактерии като много разнообразни и променливи. Необходимо е по-задълбочено разбиране на кожния микробиом, за да се изучи детайлно микробното участие в кожните заболявания на човека и да се даде възможност за нови промикробни и антимикробни терапевтични подходи за тяхното лечение.

**Ключови думи:** нормална флора, микробиом, микробиота, пропионибактерии, лактобацили, резидентна флора

### ABSTRACT

The human skin is a dynamic ecosystem inhabited by bacteria, mites, fungi and viruses. This set of microorganisms living on the skin and mucous membranes of the oropharynx, upper respiratory tract, conjunctiva, colon and lower urogenital tract, is called „normal flora“ (physiological, natural, autochthonous, microbiome, microbiota) and is essential for skin physiology and immunity.

The development of molecular methods to identify microorganisms has led to an emerging view of the resident skin bacteria as highly diverse and variable. An enhanced understanding of the skin microbiome is necessary to gain insight into microbial involvement in human skin disorders and to enable novel probiotic and antimicrobial therapeutic approaches for their treatment.

**Keywords:** normal flora, microbiome, microbiota, *Propionibacteria*, *Lactobacilli*, resident flora

## ВЪВЕДЕНИЕ

Най-големият орган в човешкото тяло – кожата, е съставена от 1,8 м<sup>2</sup> разнообразна повърхност, богата на гънки, инвагинации и специализирани ниши, които поддържат широк спектър от микроорганизми. Така кожата се превръща в сложна и динамична екосистема, обитавана от бактерии, акари, гъбички и вируси. Тази съвкупност от микроорганизми, живеещи по кожата и лигавиците на орофаринкса, горните дихателни пътища, конюнктивата, дебелото черво и долните отдели на уро-гениталния тракт, се нарича нормална флора (физиологична, естествена, аутохтонна, микробиом, микробиота) и има основно значение за физиологията на кожата и имунитета (12,24,41,44,60,61).

*Integumentum commune* медира информацията от външния свят и осигурява първа линия на защита срещу патогени, токсини и неблагоприятните условия на околната среда. Тази бариерна функция е както физическа, така и имунологична, и се поддържа от микробните общности, обитавщи кожата (51). Взаимодействието между кожните микроби и гостоприемника са ключови в континуума между мутуализъм и патогенност.

Разработването на молекулярни методи за идентифициране на микроорганизми доведе до по-богата представа за пребиваващите кожни бактерии като много разнообразни и променливи. Необходимо е по-задълбочено разбиране на кожния микробиом, за да се изучи детайлно микробното участие в кожните заболявания на човека и да се даде възможност за нови промикробни и антимикробни терапевтични подходи за тяхното лечение.

### Нормална флора на кожата

Микроорганизмите, живеещи по кожата и лигавиците на орофаринкса, горните дихателни пътища, конюнктивата, дебелото черво и долните отдели на уро-гениталния тракт, се наричат нормална флора (физиологична, естествена, аутохтонна, микробиом, микробиота). Човешката микробиота на кожата може да бъде разделена на две отделни групи микроорганизми: коменсални (резидентни) и преходни (транзиторни). Пребиваващите микробиоти (наричани още коменсални кожни микроби) също се разделят на два вида - аеробната резидентна флора, представена от грам-позитивни видове *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Corinebacterium* spp, грам-негативните – *Acinetobacter* spp, и анаеробната флора, най-често представена от *Propionibacterium* spp, *Sph.saccharolyticus* в 20% от популацията.

Сред най-често изолираните представители на стафилококовите микроорганизми от нормалната кожа са коагулазо-негативните *S. hominis*, *S. epidermidis*, *S. capitis*, *S. cohnii*, *S. haemolyticus*, *S. saprophyticus*, *S. warneri*. Тази група е по-многобройна, сравнено с популацията на *Micrococcus*, представена от *M. luteus*, *M. varians*, *M. kristinae*, *M. sedentarius* и *M. lylae*.

Коринеиформените бактерии (дифтероидите) са предимно грам-положителни, аеробни, плеоморфни пръчици. Разделят се на четири Коринеиформени комплекса – *C. bovis*, *C. minutissimum*, *C. xerosis* и *C. hofmani*. Последните, заедно с *Propionibacterium* и *Brevibacterium*, са изключително представени в зоните с по-висока влажност.

Пропионебактериите са представени от три вида микроорганизми – *P. acnes*, *P. granulosum* и *P. avidum*. Това са анаеробни, грам-положителни пръчици, които по-често ангажират кожата по лицето, подмишниците и слабините на възрастните.

В дълбоките части на космените фоликули се откриват анаеробните *Propionibacterium*, а повърхностно – аеробни коки, *Malassezia*.

Транзиторната микробиота се състои от патогенни бактерии като *Streptococcus pyogenes* (*S. pyogenes*) или *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), които са временно присъстващи в дадени зони по кожната повърхност и могат да причинят инфекции.

Влажността на кожата и наличието на себацидни жлези определят покритието на различни участъци от нея с микроорганизми. Сухите участъци са относително бедни, докато по-влажните като аксилни, перинеум, интердигитални пространства и скалпа, поддържат по-голяма микробна популация.

Естественият профил на микробиома е уникален. Той се различава в рамките на всеки индивид, както и според мястото на тялото. Разликите са причинени от разликите в рН, влага, соленост и себум съдържание. Въпреки тези вътрешноиндивидуални различия бактериалните, гъбичните и вирусните съобщества в зоните са до голяма степен стабилни във времето (49).

### Модифициращи фактори на микробиома

Факторите на околната среда и макроорганизма пряко оказват влияние върху микробната популация. Един до два часа след почистване се наблюдава повишаване дисеминацията на бактерии от съседни зони (43). Счита се, че сезоните не оказват особено влияние на кожния микробиом, но е установено увеличаване на популациите с

повишаване на температурата на околна среда и влажността при едновременно влияние на тези два фактора, не и самостоятелно(18).

Друг важен модифициращ естествената флора фактор е възрастта. Микробиомът в бебешката кожа е представен от временни резиденти, стрептококи и спорообразуващи агенти. Микрококаcea доминират, сравнено с кожата в зрели индивиди. Пропионебактериите се нуждаят от повишени липидни нива по кожата, затова преобладават във възрастта на пубертета.

Интерес представляват установените различия в микробиома между различните географски популации и между мъжете и жените след пубертета (40,74). Тези различия може да са от значение за човешката еволюция по време на миграцията от Африка в Европа, където *Homo sapiens* и *H. neanderthalensis* са живели в пещери, среда, в която вероятно имат повишена експозиция на микроорганизми, както и могат да доведат до развитие на автоимунни, полово свързани заболявания.

Съществуват доказателства, че микробиомът по кожата на мъжете е много по-богат. Това правило се отнася особено за аеробните микроорганизми (43).

Убедителни данни за значение на расата има относно назалното носителство на *S.aureus*. При бели деца то достига 41%, докато при деца от негроидната раса носителството достига до 30% (26). За останалите микробиомни видове данните са неубедителни.

Антисептиците, дезинфектантите при оперативни интервенции, измивните вещества водят до премахване на временната флора и значително редуцират резидентите (39). (24). Агентите, потискащи грам-положителните коки, предизвикват повишаване популацията на грам-отрицателните пръчици. Носителството на *S.aureus* се повлиява от студено време, хоспитализация, инжекционни манипулации(71).

#### **Влияние на нормалната флора върху кожата**

##### *Положителни въздействия:*

- Защитна роля срещу колонизацията на инфекциозни агенти чрез:
- Предотвратяване на колонизацията (адхезията): по влажни повърхности, хидрофобната структура на бактериалната стена осигурява плътен контакт между нея и човешките клетки. Това явление се обезпечава от допълнителни „помощници”, разположени по външната бактериална повърхност, наречени адхезини (22). Те обикнове-

но са специфични и комуникират с клетката гостоприемник чрез рецепторен апарат. Пример за бактериални адхезини са молекулите на липотейхоевата киселина (10), открити в стафилококи и стрептококи, по-късно преоткрити под формата на фибрили. Секретията на екстрацелуларна слуз от резидентите също подпомага придържането им към различни повърхности и най-вече към *stratum corneum* (22).

- Конкуренция за хранителни вещества и растежни фактори в дадена екологична ниша.
- Селективна промяна на локалната физико-химична среда - продуциране на метаболитни продукти, изчерпване на кислорода от средата, подкиселяване на средата – лактобацили на Дюдерлайн, бифидобактериите в чревния тракт на кърмачето;
- Стимулиране развитието на имунната система и имунния отговор, секретиране на антибактериални вещества (7). Благодарение на кожния микробиом кръвните имунни клетки са обучени да реагират бързи при среща с патоген (55).
- Кератиноцитите модулират различни сигнали от хоста и от микробен произход (13,14).
- Стимулиране растежа на епителните клетки в лигавиците и синтеза на цитоплазматични клетки в тях.
- Ензимна производителност – някои ензими на микробиомните клетки дезаминират аминокиселини, естерифицират, деалкилират, хидролизират или редуцират диазо-съединения, дехидроксилират или хидролизират жлъчните киселини до свободни жлъчни киселини, метаболизират билирубина до уробилиноген, който се реабсорбира и екскретира с урината и жлъчката.
- Продукция на витамини – предимно тези от група В, поради тази причина при продължително лечение с антибиотичен препарат е препоръчително да се приемат витамини от посочената група.

##### *Неблагоприятни въздействия:*

- Инфекции – при попадане в нормално стерилни области на организма (перфорация на черво, кожни наранявания, екстракция на зъби); опортюнистични инфекции при имunosупресирани пациенти.
- Ензимна производителност – ензимите на бактериите от устната кухина предиз-

викват кариес, бактериалните азоредуктази хидролизират редукивно азотска в боите, което води до образуване на ароматни амини, някои от които са силно канцерогенни.

#### **Методи за изследване на нормалната флора**

Много методи са използвани за изследване на нормалната и коменсалната флора, но се оказва, че нито един от тях не е достатъчно приложим за всички резидентни видове (65). За доказване на големи колонии обикновено се използват смивове. За стимулиране растежа на бактериите се прилагат допълнително продължително триене, налягане, овлажняване на пробите. Информация за пространственото разпространение на видовете се установява чрез лепящи ленти. Изрязването на биопсичен материал в цялата дебелина на кожата се предполага, че би бил най-информативният метод, но предвид травматичния момент и трудното му приложение, също е с ограничено приложение.

Използваните за изолация среди влияят на резултатите от взетите проби. Препоръчително е основно да се използват кръвни и серумни агари за аеробни организми и обогатена с тиогликолат среда на Brewer с 1% Tween 80 за изолация на *P. acnes* (43).

За независими културелни изследвания, използващи по-нови молекулярни генетични методи, ДНК на организмите трябва да бъде извлечена, обработена и амплифицирана. Широко обхватните PCR праймери, насочени към определени региони на бактериите, позволяват относително лесно амплифициране на последователностите на малките подгрупи рРНК гени.

Геномните методи за характеризация на кожните резиденти разкриват много по-голямо разнообразие от организми отколкото това, разкрито чрез културно-базирани методи (15,22,25,29,30). Според метагеномно секвениране на 16S рибозомна РНК, повечето кожни бактерии попадат в четири различни типа: Actinobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes и Proteobacteria. Тези четири доминиращи линии също съставляват микробиотата във вътрешните повърхности на лигавицата (стомашно-чревния тракт и устната кухина (5,6,17,18,54,76)). Пропорциите обаче се различават значително: докато Actinobacteria са по-обилно представени по кожата, членовете Firmicutes и Bacteroidetes са преобладаващи в стомашно-чревния тракт. Общата характеристика на чревните и кожните микробни общности изглежда е ниското разнообразие на ниво тип, но голямото разнообразие на ниво вид.

## **АСОЦИИ МЕЖДУ КОЖНИЯ МИКРОБИОМ И НЯКОИ ЗАБОЛЯВАНИЯ**

### ***Dermatitis atopica***

Класически AD се среща по-често в сгъвките по крайниците, поселени с приблизително еднообразни микроорганизми (15). Независимо дали се касае за интактна кожна повърхност, или атопични лезии, е установено, че кожата на повече от 90% от пациентите с АД е колонизирана със *S. aureus* и следователно със загуба на разнообразие от микробиомни клетки, като този факт пряко корелира с тежестта на заболяването. При здрави индивиди това носителство е около 5% (37). Други проучвания са установили увеличаване също на гъбичното разнообразие и уникални анаеробни бактериални видове като *Clostridium* и *Serratia* (48).

Интерес представлява по-богатата разновидност на чревните микробиоти при деца атопици - приличат на тези при възрастни индивиди, т.е. трикратно намаляване на бактериодите и колонизация на *Clostridium* клъстери IV и XIVa (47). Повишеното разнообразие и бактериалното натоварване в червата може да има значително въздействие върху имунната чувствителност, реактивност и толерантност, което може допълнително да допринесе за обостряне на АД. Асоциациите между АД и човешкия микробиом вероятно ще бъдат свързани с повишен микробен товар на мястото на лезията, както и с променена имунна реактивност в системен мащаб.

### ***Psoriasis***

Още през 1955 г. се съобщава за силна клинична връзка между стрептококови бета-хемолитични инфекции от група А на гърлото и гутатен псориазис, а допълнителни доказателства сочат, че хроничният плакетен псориазис е свързан с орални стрептококови инфекции (45). В псориазисните плаки са идентифицирани по-високи нива на *Streptococcus* и *Propionibacterium*, доминират протеобактерии или актинобактерии, или Firmicutes (67). Като цяло бактериалното разнообразие е намалено при пациенти с псориазис, въпреки че разликата не е значителна. Гъбичното и вирусното разнообразие при тези пациенти все още не е изследвано. Това е в пряк контраст с АД, където повишеното натоварване на микробното разнообразие може да допринесе за симптомите на заболяването и прогресията.

Въпреки че механизмите, залегнали в основата на тези променени общности, остават неизвестни, се предполага, че комбинацията от генетични или специфични възпалителни отговори, предизвикани от уникални бактериални подгру-



пи, вероятно играе ключова роля за тежестта на заболяването.

### ***Acne vulgaris***

*Propionibacterium acnes* (*Cutibacterium acnes*) е важен патогенен фактор при акне. Тяхната биохимична активност да секретират на липази, протеази и хиалуронидази, води до увреждане на пило-себацейните единици и активира класическия и алтернативния път на комплемента, производството на проинфламаторни цитокини и неутрофилни хемотаксични фактори. Както обаче беше отбелязано по-рано, *Propionibacterium* също е идентифициран като доминиращ коменсален кожен микроорганизъм (15). Оказва се обаче, че при пациенти с акнеична кожа доминират шест различни щамове на *P. acnes* и едва един уникален щам при здрави индивиди. При патогенните щамове са идентифицирани гени за устойчивост на антибиотици (19,23).

В друго проучване се отбелязва, че засегнатите от акне фоликули се колонизират от множество бактериални видове в допълнение към *P. acnes*, включително други коменсални микроорганизми като *Streptococcus epidermidis*, докато здравите индивиди се колонизират от *P. acnes* (2).

Тези проучвания показват как коменсалните микроорганизми имат потенциал да бъдат патогенни или чрез геномна еволюция, или чрез взаимодействия с други местни микробни видове. В допълнение тези проучвания също така подчертават потенциала за смекчаване тежестта на дерматологичното заболяване чрез прилагане на нови терапевтични решения, като например бактериална конкуренция.

### ***Rosacea***

*Demodex folliculorum*, е основен етиологичен фактор в патогенезата на розацеята, тъй като в многобройни проучвания е установено неговото високо микробно число върху кожата на засегнатите пациенти (9,11,34,77). Акарите *Demodex* (като *Demodex folliculorum* и *Demodex brevis*) са свързани и с редица други кожни заболявания, включително сърбеж по лицето и хроничен блефарит (21,27,38). Видовете *Demodex* се намират в пилосебацейните структури, най-често в кожата на лицето, и се считат за част от нормалната кожна микрофлора (21,31).

Други фактори за заболяването са *Bacillus oleronius* - провъзпалителни, грам-отрицателни бактерии, които са податливи на много антибиотици, често използвани за лечение на розацея, включително доксицикли, за които се предполага, че *Demodex* видовете са предполагаеми носи-

тели (38,50,68). *Staphylococcus epidermidis*, здрав коменсал на кожата, също е изолиран от пустули на розацея (72). В сравнение с нехемолитичния *S. epidermidis*, открит при здрави контроли, *S. epidermidis*, изолиран от пациенти с розацея, е бета-хемолитичен вариант с възможно повишена вирулентност (16). По-рано се предполагаше, че антибиотичната терапия подобрява розацеята предимно чрез нейните противовъзпалителни ефекти, но тези проучвания предполагат, че има и антибактериален механизъм. Най-изследваната чревна бактерия по отношение на заболяването е *Helicobacter pylori*, грам-отрицателен организъм, който живее в стомаха на около 50% от населението (3,8,32,75). Въпреки че точният път между инфекцията с *H. pylori* и розацеята не е напълно изяснен, проучванията показват, че той може да упражнява ефекти чрез своите провъзпалителни вирулентни пептиди, особено при тези със съпътстващи стомашно-чревни симптоми (1,69). Независимо от това връзката с *H. pylori* и розацея остава противоречива, тъй като други проучвания не са открили корелация между двата микроорганизма (35,63,66). Все още се обсъжда дали дисбиозата възниква в отговор на розацея, или е причина (70).

### ***Хронични улцерации***

Хроничните улцерации, които продължават повече от 3 месеца, се срещат най-често при пациенти с диабет, възрастни хора и имунокомпрометирани лица. Въпреки че бактериалната инфекция може да не е първопричина за кожната лезия, микроорганизмите могат да допринесат за липсата на зарастване и трайна инфламация в улцерациите.

Няколко проучвания са изследвали микробни съобщества в хронични венозни язви на долни крайници и диабет (28,58,73). Установени са намалено коменсално разнообразие, различни анаеробни агенти, включително *Staphylococcus*, *Serratia* и *Clostridium* видове, разнообразна комбинация от гъбички, протозои и вируси (73). Това показва, че драстичната промяна в микро-околната среда позволява опортюнистичната колонизация на специално адаптирани микроби и изисква разширен панел на терапия, насочен не само към бактериалните фактори (58).

### ***Dermatitis seborrhoides***

Себорейният дерматит е свързан с *Malassezia*, гъбички, които обикновено са част от микробиома на човешката кожа. В едно проучване *Malassezia* spp. са изчислени, че съставляват 53–80% от общата популация на гъбичките в зави-

симост от мястото на кожата, като ретроаурикуларната гънка има най-висок дял (26).

Въпреки това ролята на *Malassezia* за развитието на себороен дерматит все още не е добре проучена. Чрез пироксиквенция и количествена полимеразна верижна реакция за характеризиране на бактериалните микроби върху кожата със и без SD е установено, че *Actinobacter*, *Staphylococcus* и *Streptococcus* доминират в микробиома на себорейната кожа в сравнение с кожата без лезии.

Молекулярните подходи се използват за характеризиране на еукариотни видове, колонизиращи кожата, въпреки че тези методи не са толкова добре развити.

Гъбична филогения е установена с използване на данни от шест гена: 18S рРНК, 28S рРНК, 5.8S рРНК, елонгиращ фактор 1 $\alpha$  и две субединици на РНК полимеразата II (3). Повечето гъбични организми, идентифицирани върху здравата кожа чрез молекулярно типизиране, приличат на *Malassezia* spp., като тясно отразяват данните, базирани на културелните изследвания (26,52,53).

Културно-базиран анализ предполага, че *Candida* spp. рядко колонизират човешката кожа, но могат да причинят клинична инфекция, особено в условия на имунна недостатъчност, диабет или инфекция след употреба на антибиотици (56,59). Други видове гъби, за които според културно-базирани анализи се смята, че растат по кожата, включват *Debaryomyces* и *Cryptococcus* spp.3, въпреки че това не е потвърдено чрез молекуларен анализ на кожни гъбични биоти. Необходими са по-големи, по-обширни изследвания на човешките кожни гъбички, както и по-добри подходи за идентифициране и анализ на гъбични последователности.

В последното десетилетие се разработват методи за изолиране и идентифициране на вируси от кожата като например rolling-circle амплификация (62). Тези микроорганизми е вероятно да бъдат важен компонент на кожната екосистема, но е необходим по-нататъшен анализ на тяхното разнообразие и динамика на колонизация

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Кожата е най-големият орган на човешкото тяло, колонизиран от разнообразни микроорганизми, повечето от които са безвредни и дори благоприятни за техния домакин. Колонизацията зависи от условията на кожната повърхност, която е силно променлива в зависимост от топографското местоположение, ендогенните фактори на гостоприемника и екзогенните фактори

на околната среда. Иммунната система на макроорганизма и автохтонната микрофлора са в постоянна корелация. Развитие на молекулярните методи за идентифициране на микроорганизми доведе до нови постижения в изучаването на резидентните кожни бактерии. Една от последните тенденции в борбата с фотостареенето и стареенето на кожата е приложението на пробиотици. Въпреки че изследванията по този въпрос все още са в начален етап, новите продукти се пускат на пазара бързо. Първоначалните проучвания върху животински модели и клинични проучвания при хора показват, че пробиотичните продукти могат да забавят вътрешния и външния процес на стареене.

Sharma et al. считат, че пробиотиците могат да възстановят киселинното рН на кожата, да облекчат оксидативния стрес, да отслабят фотостареенето, да подобрят бариерната функция и качеството на косата (64).

Растителни екстракти, ферментирани с *Lactobacillus buchneri* (PELB), открити в Kimchi, били оценени по отношение на техните анти-фотостареещи ефекти. PELB намаляват еластазната и колагеназната активност, увеличава експресията на колаген от тип I в кожа, при която е индуцирано UVB – фотостареене в in vitro модел. Така PELB могат да бъдат полезни в козметичната индустрия като защитни продукти срещу UVB-индуцирано фотостареене (36). Друго изследване установява, че приложението на *Nitrosomonas eutropha* води до значително подобрение в тежестта на дълбочината на бръчките, хиперпигментацията на челото и глелата в групата, получаваща висока локална концентрация на пробиотичната формула (46).

Подобреното разбиране на микробиома на кожата е необходимо, за да се получи по-добра представа за микробното участие в нарушенията на човешката кожа и да се дадат нови промикробни и антимикробни терапевтични подходи за тяхното лечение.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Argenziano, G.; Donnarumma, G.; Iovene, M.R.; Arnese, P.; Baldassarre, M.A.; Baroni, A. Incidence of anti-*Helicobacter pylori* and anti-CagA antibodies in rosacea patients. *Int. J. Dermatol.* 2003, 42, 601–604.
2. Bek-Thomsen M, Lomholt HB, Kilian M. Acne is not associated with yet-uncultured bacteria. *J. Clin. Microbiol.* 2008; 46:3355–60.
3. Bhattarai, S.; Agrawal, A.; Rijal, A.; Majhi, S.; Pradhan, B.; Dhakal, S.S. The study of prevalence

- of *Helicobacter pylori* in patients with acne rosacea. *Kathmandu Univ. Med. J.* 2012, 10, 49–52.
4. Bianconi E, Piovesan A, Facchin F et al. An estimation of the number of cells in the human body. *Ann Hum Biol.* 2013 Nov-Dec; 40(6):463–71
  5. Bik EM, et al. Molecular analysis of the bacterial microbiota in the human stomach. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2006; 103:732–737.
  6. Bik EM, et al. Bacterial diversity in the oral cavity of 10 healthy individuals. *ISME J.* 2010; 4:962–974.
  7. Braff MH, Bardan A, Nizet V, Gallo RL. Cutaneous defence mechanisms by antimicrobial peptides. *J. Invest. Dermatol.* 2005; 125:9–13.
  8. Brown, L.M. *Helicobacter pylori*: Epidemiology and routes of transmission. *Epidemiol. Rev.* 2000, 22, 283–297.
  9. Casas, C.; Paul, C.; Lahfa, M.; Livideanu, B.; Lejeune, O.; Alvarez-Georges, S.; Saint-Martory, C.; Degouy, A.; Meneaud, V.; Ginisty, H.; et al. Quantification of *Demodex folliculorum* by PCR in rosacea and its relationship to skin innate immune activation. *Exp. Dermatol.* 2012, 21, 906–910.
  10. Carruthers MM, Kabat WJ. Mediation of staphylococcal adherence to mucosal cells by lypoteichoic acid. *Infect Immun* 1983; 40: 444–6.
  11. Chang, Y.S.; Huang, Y.C. Role of *Demodex* mite infestation in rosacea: A systematic review and meta-analysis. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2017, 77, 441–447.e6.
  12. Chiller K, Selkin BA, Murakawa GJ. Skin microflora and bacterial infections of the skin. *J. Investig. Dermatol. Symp. Proc.* 2001; 6:170–174.
  13. Cogen AL, et al. Staphylococcus epidermidis antimicrobial  $\delta$ -toxin (phenol-soluble modulins) cooperates with host antimicrobial peptides to kill Group A Streptococcus. *PLoS ONE.* 2010; 5:e8557.
  14. Cogen AL, et al. Selective antimicrobial action is provided by phenol-soluble modulins derived from *Staphylococcus epidermidis* a normal resident of the skin. *J. Invest. Dermatol.* 2010; 130:192–200.
  15. Costello EK, et al. Bacterial community variation in human body habitats across space and time. *Science.* 2009; 326:1694–1697.
  16. Dahl, M.V.; Ross, A.J.; Schlievert, P.M. Temperature regulates bacterial protein production: Possible role in rosacea. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2004, 50, 266–272.
  17. Dewhirst FE, et al. The human oral microbiome. *J. Bacteriol.* 2010; 192:5002–5017.
  18. Duncan LM, McBride ME, Knox JM. Bacterial flora: the role of environmental factors. *J Invest Dermatol* 1969; 52: 479–84.
  19. Eady EA, Layton AM. A distinct acne microbiome: fact or fiction? *J. Invest. Dermatol.* 2013; 133: 2294–5.
  20. Eckburg PB, et al. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science.* 2005; 308:1635–1638.
  21. Elston DM. *Demodex* mites: facts and controversies. *Clin. Dermatol.* 2010; 28:502–504.
  22. Fierer N, Hamady M, Lauber CL, Knight R. The influence of sex, handedness, and washing on the diversity of hand surface bacteria. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2008; 105:17994–17999.
  23. Fitz-Gibbon S, Tomida S, Chiu B-H et al. *Propionibacterium acnes* strain populations in the human skin microbiome associated with acne. *J. Invest. Dermatol.* 2013; 133: 2152–60.
  24. Fredricks DN. Microbial ecology of human skin in health and disease. *J. Investig. Dermatol. Symp. Proc.* 2001; 6:167–169.
  25. Gao Z, Tseng CH, Pei Z, Blaser MJ. Molecular analysis of human forearm superficial skin bacterial biota. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2007; 104:2927–2932.
  26. Gao Z, Perez-Perez GI, Chen Y, Blaser MJ. Quantitation of major human cutaneous bacterial and fungal populations. *J. Clin. Microbiol.* 2010; 48:3575–3581.
  27. Georgala S, et al. Increased density of *Demodex folliculorum* and evidence of delayed hypersensitivity reaction in subjects with papulopustular rosacea. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 2001; 15:441–444.
  28. Gontcharova V, Youn E, Sun Y et al. A comparison of bacterial composition in diabetic ulcers and contralateral intact skin. *Open Microbiol. J.* 2010; 4: 8–19.
  29. Grice EA, et al. A diversity profile of the human skin microbiota. *Genome Res.* 2008; 18:1043–1050.
  30. Grice EA, et al. Topographical and temporal diversity of the human skin microbiome. *Science.* 2009; 324:1190–1192.
  31. Hay R. *Demodex* and skin infection: fact or fiction. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2010; 23:103–105.
  32. Holmes, A.D. Potential role of microorganisms in the pathogenesis of rosacea. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2013, 69, 1025–1032.
  33. James TY, Kauff F, Schoch CL, Matheny PB, Hofstetter V, Cox CJ et al. Reconstructing the early evolution of Fungi using a six-gene phylogeny. *Nature.* 2006 Oct 19; 443(7113):818–22.
  34. Jarmuda, S.; O'Reilly, N.; Zaba, R.; Jakubowicz, O.; Szkaradkiewicz, A.; Kavanagh, K. Potential role of *Demodex* mites and bacteria in the induction of rosacea. *J. Med. Microbiol.* 2012, 61, 1504–1510.

35. Jorgensen, A.R.; Egeberg, A.; Gideonsson, R.; Weinstock, L.B.; Thyssen, E.P.; Thyssen, J.P. Rosacea is associated with *Helicobacter pylori*: A systematic review and meta-analysis. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 2017, 31, 2010–2015.
36. Kang YM, Hong CH, Kang SH, et al. Anti-photoaging effect of plant extract fermented with *Lactobacillus buchneri* on CCD-986sk fibroblasts and HaCaT keratinocytes. *J Funct Biomater.* 2020;11(1): 3. <https://doi.org/10.3390/jfb11010003>.
37. Kong HH, Oh J, Deming C et al. Temporal shifts in the skin microbiome associated with disease flares and treatment in children with atopic dermatitis. *Genome Res.* 2012; 22: 850–9.
38. Lacey N, Delaney S, Kavanagh K, Powell FC. Mite-related bacterial antigens stimulate inflammatory cells in rosacea. *Br. J. Dermatol.* 2007;157:474–481.
39. Malibach HI, Aly R, eds. *Skin Microbiology: Relevance to Clinical infection.* New York: Springer, 1981.
40. Markle JG, Fish EN. Sex matters in immunity. *Trends Immunol* 2014; 35:97-104; PMID:24239225; <http://dx.doi.org/10.1016/j.it.2013.10.006>
41. Marples M. *The Ecology of the Human Skin.* Bannerstone House, Springfield, Illinois: Charles C Thomas; 1965. A seminal and comprehensive work of classical dermatological microbiology.
42. Nobel WC. Carriage of *Staphylococcus aureus* and  $\beta$ -hemolytic streptococci in relation to race. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 1974; 54: 403-5.
43. Noble WC. *Microbiology of Human Skin.* London: Lloyd-Luke Medical Books, 1981.
44. Noble WC. Skin microbiology: coming of age. *J. Med. Microbiol.* 1984;17:1–12.
45. Norrlind R. Significance of infections in origin of psoriasis. *Acta Rheumatol. Scan.* 1955; 1: 135–44.
46. Notay M, Saric-Bosanac S, Vaughn AR, Dhaliwal S, Trivedi M, Reiter PN, Rybak I, Li CC, Weiss LB, Ambrogio L, Burney W, Sivamani RK. The use of topical *Nitrosomonas eutropha* for cosmetic improvement of facial wrinkles. *J Cosmet Dermatol.* 2020;19(3):689–93. <https://doi.org/10.1111/jocd.13060>.
47. Nylund L, Satokari R, Nikkilä J et al. Microarray analysis reveals marked intestinal microbiota aberrancy in infants having eczema compared to healthy children in at-risk for atopic disease. *BMC Microbiol.* 2013; 13: 12.
48. Oh J, Freeman AF, Park M et al. The altered landscape of the human skin microbiome in patients with primary immunodeficiencies. *Genome Res.* 2013; 23: 2103–14.
49. Oh J, Byrd AL, Park M, Kong HH, Segre JA. Temporal stability of the human skin microbiome. *Cell* 2016; 165(4): 854-66.
50. O'Reilly, N.; Menezes, N.; Kavanagh, K. Positive correlation between serum immunoreactivity to Demodex-associated *Bacillus* proteins and erythematotelangiectatic rosacea. *Br. J. Dermatol.* 2012, 167, 1032–1036.
51. Pasparakis, M., Haase, I. & Nestle, F. O. Mechanisms regulating skin immunity and inflammation. *Nature reviews. Immunology* 14, 289–301 (2014)
52. Paulino LC, Tseng CH, Strober BE, Blaser MJ. Molecular analysis of fungal microbiota in samples from healthy human skin and psoriatic lesions. *J. Clin. Microbiol.* 2006;44:2933–2941.
53. Paulino LC, Tseng CH, Blaser MJ. Analysis of *Malassezia* microbiota in healthy superficial human skin and in psoriatic lesions by multiplex real-time PCR. *FEMS Yeast Res.* 2008 May; 8(3):460-71.
54. Pei Z, et al. Bacterial biota in the human distal esophagus. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2004;101:4250–4255.
55. Penev J, Balabanova M., Bakardzhiev I. (2021) Symbiosis Review: Atopic Dermatitis -Exposome, Microbiome, Psyche, and Evolution. *Clin Res Dermatol Open Access* 8(1): 1-5 DOI: 10.15226/2378-1726/8/1/001129
56. Peleg AY, Hogan DA, Mylonakis E. Medically important bacterial-fungal interactions. *Nature Rev. Microbiol.* 2010;8:340–349.
57. Pertea M, Salzberg SL Between a chicken and a grape: estimating the number of human genes. *Genome Biol.* 2010 11(5):206
58. Price LB, Liu CM, Melendez JH et al. Community analysis of chronic wound bacteria using 16S rRNA gene-based pyrosequencing: impact of diabetes and antibiotics on chronic wound microbiota. *PLoS ONE* 2009; 4: e6462.
59. Roth RR, James WD. Microbial ecology of the skin. *Annu. Rev. Microbiol.* 1988;42:441–464
60. Roth RR, James WD. Microbiology of the skin: resident flora, ecology, infection. *J. Am. Acad. Dermatol.* 1989;20:367–390.
61. Savage DC. Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Annu Rev Microbiol.* 1977; 31:107-3.
62. Schowalter RM, Pastrana DV, Pumphrey KA, Moyer AL, Buck CB. Merkel cell polyomavirus and two previously unknown polyomaviruses are chronically shed from human skin. *Cell Host Microbe.* 2010;7:509–515.
63. Sharma, V.K.; Lynn, A.; Kaminski, M.; Vasudeva, R.; Howden, C.W. A study of the prevalence of *Helicobacter pylori* infection and other markers of upper gastrointestinal tract disease in patients with rosacea. *Am. J. Gastroenterol.* 1998, 93, 220–222.



64. Sharma D, Kober MM, Bowe WP. Anti-aging effects of probiotics. *J Drugs Dermatol*. 2016;15(1):9–12.
65. Shehaden NH, Kligman AM. The effect of topical antibacterial agents on the bacterial flora of the axilla. *J Invest Dermatol* 1963; 40: 61-71.
66. Son, S.W.; Kim, I.H.; Oh, C.H.; Kim, J.G. The response of rosacea to eradication of *Helicobacter pylori*. *Br. J. Dermatol*. 1999, 140, 984–985.
67. Statnikov A, Alekseyenko AV, Li Z et al. Microbiomic signatures of psoriasis: feasibility and methodology comparison. *Sci. Rep*. 2013; 3: 2620.
68. Szkaradkiewicz, A.; Chudzicka-Strugala, I.; Karpinski, T.M.; Goslinska-Pawlowska, O.; Tulecka, T.; Chudzicki, W.; Szkaradkiewicz, A.K.; Zaba, R. *Bacillus oleronius* and *Demodex* mite infestation in patients with chronic blepharitis. *Clin. Microbiol.. Infect*. 2012, 18, 1020–1025.
69. Szlachcic, A.; Sliwowski, Z.; Karczewska, E.; Bielanski, W.; Pytko-Polonczyk, J.; Konturek, S.J. *Helicobacter pylori* and its eradication in rosacea. *J. Physiol. Pharmacol*. 1999, 50, 777–786.
70. Two, A.M.; Wu, W.; Gallo, R.L.; Hata, T.R. Rosacea. *J. Am. Acad. Dermatol*. 2015, 72, 749–758.
71. Tuazon CU. Skin and skin structure infections in the patients in risk: carrier state of *Staphylococcus aureus*. *Am J Med* 1984; 76: 166-71.
72. Whitfeld, M.; Gunasingam, N.; Leow, L.J.; Shirato, K.; Preda, V. *Staphylococcus epidermidis*: A possible role in the pustules of rosacea. *J. Am. Acad. Dermatol*. 2011, 64, 49–52.
73. Wolcott RD, Gontcharova V, Sun Y et al. Evaluation of the bacterial diversity among and within individual venous leg ulcers using bacterial tag-encoded FLX and titanium amplicon pyrosequencing and metagenomic approaches. *BMC Microbiol*. 2009; 9: 226.
74. Yatsunenکو T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M, Magris M, Hidalgo G, Baldassano RN, Anokhin AP, et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature* 2012; 486:222-7; PMID:22699611
75. Zandi, S.; Shamsadini, S.; Zahedi, M.J.; Hyatbaksh, M. *Helicobacter pylori* and rosacea. *Eastern Mediterranean health journal=La revue de sante de laMediterranee orientale=al-Majallah al-sihhiyah li-sharq al-mutawassit*. East. Mediterr. Health J. 2003, 9, 167–171.
76. Zaura E, Keijser BJ, Huse SM, Crielaard W. Defining the healthy ‘core microbiome’ of oral microbial communities. *BMC Microbiol*. 2009;9:259.
77. Zhao, Y.E.; Wu, L.P.; Peng, Y.; Cheng, H. Retrospective analysis of the association between *Demodex* infestation and rosacea. *Arch. Dermatol*. 2010, 146, 896–902

**Адрес за кореспонденция:**

Д-р Женья Стоянова

Отделение по кожни болести и венерология

УМБАЛ „Света Марина“ ЕАД, Варна

п.к. 9010, бул. „Х. Смирненски“ 1

e-mail: Zhenya.Borisova@mu-varna.bg